



TITLE:

# OVOL1 Influences the Determination and Expansion of iPSC Reprogramming Intermediates( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Kagawa, Harunobu

---

CITATION:

Kagawa, Harunobu. OVOL1 Influences the Determination and Expansion of iPSC Reprogramming Intermediates. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21647>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏 名	香川 晴信
論文題目	OVOL1 Influences the Determination and Expansion of iPSC Reprogramming Intermediates (OVOL1 は iPS 細胞初期化過程における中間体の細胞運命決定と増殖を制御する)		
(論文内容の要旨)			
<p>iPS 細胞の詳細な誘導機構は未だ完全には解明されていない。初期化過程では前期の間葉上皮転換 (MET) の誘導や後期の多能性獲得といった多段階な変化が誘導される。これらの細胞運命転換は初期化因子の発現量に大きく依存している。たとえば、初期化因子の一つである KLF4 の発現量が高い場合には低い場合と比較して、高効率な iPS 細胞の樹立が可能である。また、KLF4 の発現量が高い場合には iPS 細胞での発現が維持されるコア MET 遺伝子に加え、さらに複数の上皮遺伝子が初期化中間体において一過的に発現上昇する。しかしながら、一過性 MET 誘導が多能性獲得に与える影響は明らかにされていない。本研究では一過性 MET 誘導の初期化過程における機能解明を目的に研究を行った。まず、KLF4 の発現量が異なる 2 つの初期化過程において遺伝子発現の比較を行い、一過性 MET を誘導する細胞集団に特異的な細胞表面マーカー TROP2 を同定した。初期の TROP2 陽性細胞は多能性のマーカーである SSEA-1 陽性細胞を多く含み、高い初期化効率を示した。一方で、後期においても TROP2 の発現を維持する細胞は初期化抵抗性を示した。これらの結果から、TROP2 陽性の上皮様細胞状態から TROP2 陰性かつ SSEA-1 陽性である未分化状態への細胞運命転換の重要性が示唆された。次に、遺伝子発現抑制を用いた、一過性 MET 誘導の制御転写因子の探索を行った。TROP2 の発現を一過性 MET 誘導の指標として用いることで、上皮の分化過程において MET 誘導と細胞増殖を制御することが知られている転写因子 OVOL1 を候補転写因子として同定した。OVOL1 の発現抑制に伴って TROP2 だけではなく、その他の一過性 MET 遺伝子の発現も同様に抑制されたことから、一過性 MET の誘導は OVOL1 によって制御されていることが示唆された。最後に、多能性獲得における一過性 MET 誘導の機能を明らかにするために、OVOL1 の発現制御による初期化効率への影響を検討した。KLF4 発現量が高い初期化過程において OVOL1 を抑制すると多能性の獲得に失敗した部分初期化細胞の増殖が活性化し、初期化効率が相対的に減少した。一方、KLF4 発現量が低い初期化過程において OVOL1 を過剰発現させると、部分初期化細胞の増殖は抑制されたが、多能性の獲得に対する促進的な影響はなかった。これらの結果から KLF4 発現量が高い初期化過程の初期において OVOL1 は一過性 MET 遺伝子を誘導し、部分初期化細胞の細胞運命を増殖能力の低い上皮様細胞へと導くことによって、結果的に高効率な初期化誘導に寄与していることが明らかになった。本研究成果は初期化過程の連続した細胞運命転換における一過的な遺伝子発現の変動が初期化効率に与える影響を明らかにした。</p>			

<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>iPS 細胞への初期化過程は初期化因子の量比によって影響を受ける。初期化因子の一つである KLF4 の発現が高い誘導法では、途中段階において一過性の間葉上皮転換（MET）が観察され、高効率な初期化が誘導される。しかし、一過性 MET 遺伝子の機能や高効率な初期化誘導の機構については解明されていない。本研究では、一過性 MET が誘導された細胞に特異的な細胞表面マーカー TROP2 を同定した。TROP2 陽性の細胞集団の中から多能性マーカーである SSEA-1 陽性の細胞が出現し、TROP2 の発現が後期まで維持される細胞は初期化に至らなかった。以上のことから、TROP2 陽性から SSEA-1 陽性への転換が初期化過程における律速段階であることが示唆された。さらに、TROP2 発現量を MET 誘導の指標とした遺伝子抑制スクリーニングを行い、一過性 MET 誘導に重要な転写因子 OVOL1 を同定した。OVOL1 の発現抑制によって細胞増殖が亢進し、不完全な初期化細胞の数が増加した。これらの結果から、KLF4 の発現が高い誘導法では、不完全な初期化細胞の増殖が OVOL1 によって抑制され、結果的に高効率な初期化が誘導されることが明らかになった。</p> <p>以上の研究は iPS 細胞への初期化過程における新規細胞表面マーカー TROP2 を同定すると共に、一過性 MET 遺伝子発現の機構を明らかにしたものであり、iPS 細胞の初期化機構の解明に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 2 月 8 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			